10/517,564 - R2 - DeKoning et al. PTO-892 ref. M

(19) 日本国特許厅(JP)

(12)特許公報(82)

(11)特許番号

特許第3773148号 (P3773148)

(45) 発行日 平成18年5月10日(2008.5.10)

(24) 登錄日 平成18年2月24日 (2006.2.24)

(51) Int.Cl.

FI

A 6 1 K 31/7076 (2006.01) A 6 1 P 9/00 (2006.01) A O 1 N 1/02 (2006.01) A61K 31/7076 A61P 9/00 A01N 1/02

CO7H 19/167

(2006.01)

CO7H 19/167

請求項の数 8 (全 17 頁)

(21) 出願番号

特額平9~311563

(22) 出題日

平成9年10月29日 (1997.10.29)

(65) 公開番号

特開平11-130792

(43) 公開日

平成11年5月18日 (1999.5.18)

審查請求日

平成13年10月15日 (2001.10.15)

(73) 特許權者 000004477

キッコーマン株式会社

千葉県野田市野田250番地

(74)代理人 100125542

弁理士 鈴木 英之

(72) 発明者 片岡 茂博

千葉泉野田市野田339番地 キッコーマ

ン株式会社内

||(72) 発明者 | 間中 達雄

不業県野田市野田339番地 キッコーマ

ン株式会社内

(72) 発明者 葛西 浩一

千葉県野田市野田339番地 キッコーマ

ン株式会社内

最終質に続く

(54) [発明の名称] 虚血性疾患予防、治療剤及び緊器保存剤

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

下記の一般式

[化1]

10

(武中の R_1 は、水素原子、炭素数 1 ないし 6 のアルキル基、アルキル基の炭素数が 1 ないし 3 であるアラルキル基、又はフルフリル基を、 R_2 は、水素原子、炭素数が 1 ないし 6 のアルキル基、またはアルキル基の炭素数が 1 ないし 3 であるアラルキル基を、 R_3 は、水素原子、炭素数 1 ないし 6 のアルキル基の炭素数が 1 ないしは 3 であるアラルキル基を、 R_4 は、水素原子、アミノ基、低級アルキルアミノ基、低級アルキルチオ基、アラルキルチオ基、又はハロゲン原子を意味し、 R_1 、 R_2 、 R_3 が共に水素原子のとき、 R_4 がハロゲン原子となることはなく、また R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 が共に同時に水素原子となることはなく、また、 R_4 な、水素原子、アルカリ金属、アンモニア、アミン類を意味する)で表されるアデノシン R_4 の。 R_4 の。

30

20

アデノシン-3'、5'ー環状リン酸誘導体が N^6 ーアルキル誘導体であり、式中において R_4 が、炭素数1ないし6のアルキル基、アルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基(フェニル基は、低級アルキル基、水酸基、ハロゲン原子、若しくはアミノ基を有したフェニル基であってもよい)、又はフルフリル基であり、 R_2 、 R_3 、 R_4 が共に水素原子である、請求項1記載の<u>虚血</u>ー再潅流障害の予防削或いは治療剤。

【請求項3】

アデノシンー3'、5'ー環状リン酸誘導体が N^6 、 N^6 ージアルキル誘導体であり、式中において R_1 、 R_2 が、共に炭素数1ないし6のアルキル基、又はアルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基(フェニル基は、低級アルキル基、水酸基、ハロゲン原子、若しくはアミノ基を有したフェニル基であってもよい)であり、 R_1 と R_2 は同じであってもよく、また互いに異なっていてもよく、 R_3 、 R_4 が共に水素原子である、請求項1記載の虚血ー再潅液障害の予防剤或いは治療剤。

40

【請求項4】

アデノシンー3、、5、-環状リン酸誘導体が N^6 、 N^6 、2' -Oートリアルキル誘導体であり、式中において R_1 、 R_2 、 R_3 が同一で、同時に炭素数 1 ないし 6 のアルキル基、又はアルキル基の炭素数が 1 ないし 3 であるアラルキル基(フェニル基は、低級アルキル基、水酸基、ハロゲン原子、若しくはアミノ基を有したフェニル基であってもよい)であり、 R_4 が水素原子である、請求項 1 記載の<u>虚血 - 再灌流障害の予防削或いは治療剤</u>。

【請求項5】

アデノシン-3'、5' -環状リン酸誘導体がN⁶、2' -0 -ジアルキル誘導体であり

、式中において R_1 、 R_3 が同一で、炭素数1ないし6のアルキル基であり、 R_2 、 R_4 が共に水素原子である、請求項1記載の<u>虚血一再灌流障害の予防剤或いは治療剤</u>。

[請求項 6]

アデノシン-3'、5'ー環状リン酸誘導体が8ーアミノ又は8ーアルキルアミノ誘導体であり、式中において R_1 、 R_2 、 R_3 が、共に水素原子であり、 R_4 がアミノ基又は低級アルキルアミノ基である、請求項1記載の<u>虚血ー再潅流障害の予防剤或いは治療剤</u>。

【請求項7】

アデノシン-3'、5' -環状リン酸誘導体が N^6 - アルキル-8 - 置換誘導体であり、
式中において R_1 が、炭素数 1 ないし6 のアルキル基又はベンジル基であり、 R_2 、 R_3 が
共に水素原子であり、 R_4 が低級アルキルアミノ基、低級アルキルチオ基、アラルキルチオ基、又はハロゲン原子である、請求項 1 記載の<u>虚血 - 再潅流障害の予防剤或いは治療剤</u>

10

[請求項8]

請求項1~7記載のいずれかのアデノシン-3′,5′-環状リン酸誘導体の少なくとも一種を有効成分として含有することを特徴とする、臓器保存剤。

【発明の詳細な説明】

[00001]

【発明の属する技術分野】

本発明は、虚血性疾患の予防又は治療剤、および臓器保存剤に関し、さらに詳しくは、特定のアデノシン3'、5'-環状リン酸(以下、cAMPという)誘導体を有効成分とする、虚血性疾患予防、治療剤、及び臓器保存剤に関する。

20

[00002]

【従来の技術】

近年、活性酸素が生体に対して種々の影響を及ぼしていることが分かってきた。即ち、薬物、金属、虚血一再潅流、ストレスなどの引き金によって生成した活性酸素が、脂質、蛋白質、糖、DNAなどを攻撃して、様々な病態の形成や増悪を引き起こしている。 最近、虚血性疾患にも活性酸素が関与していることがわかってきており、その病態や疾患として虚血性脳疾患(脳梗塞、脳浮腫など)、虚血性心疾患(心筋梗塞、不整脈、狭心症など)、ショック、あるいは肺酸素中毒、臓器移植障害など多くのものがあげられる。脳梗塞の場合、血栓溶解剤を用いて血液を流れるようにすると、脳出血や脳浮腫などの虚血一再潅流障害が起こることが知られており、これを抑える良い薬は市販されていない。

30

[0003]

これらの病態に対して、D. J. Hearseらによる、アロブリノールなどのキサンチン酸化酵素阻害剤を用いる試み(Acta Physiol, Scand, Supply 548巻、65夏、1986年参照)、S. R. Jollyらによる、スパーオキサイドジスムターゼ(SOD)を用いる方法(Circ. Res., 54巻、227頁、1984年参照)、ラジカルスカベンジャーを用いる方法(特開平9-67327号参照)、アデノシンやその関連化合物を用いる試み(特開平4-124143号および特許公報2505085号参照)がなされているが、半減期の短さ又は効果が不十分であったり、副作用の問題がある。また、臓器移植においても免疫抑制剤の登場に伴う拒絶反応の克服とともに、虚血ー再灌流障害の克服が移植後の課題となっている。そして臓器を取り出してから移植までの時間が長いほど虚血状態が長く続くことになり、移植後の臓器障害の度合いも大きくなる。近年この観点から、臓器保存剤として、酸化選元能を有するペプチドの使用(特開平5-139992号)、あるいは活性酸素抑制組成物の使用(特開平8-26902号参照)などが提案されている。

[0004]

また、 N^6 、 $2^*-O-ジブチリル c$ AMPなどの c AMP誘導体が脳機能改善剤として有効との提案(国際公開番号 WO 90/11080参照)があるが、この脳機能改善剤は、脳梗塞などの虚血性疾患の直接(急性期)の予防、治療のためのものではない。つまり、前記の c AMP誘導体は、梗塞による心臓や脳の虚血ー再潅流障害からの保護では

50

なく、バーキンソン病による神経症候障害、中枢神経の変成、アルツハイマー病による痴 呆症などの脳機能、神経症候障害の改善を試みるものである。また前記提案には、脳梗塞 に代表される脳虚血、又は脳出血による脳障害という記述がなされているが、これは上記 と間様に、脳梗塞の結果生じた後遺症である脳神経障害の治療に有効であることを示して おり、そして前記のcAMP誘導体が、前記疾患に通常使用されるイデベノンやホパテン 酸カルシウム、ドバミンなどの薬剤に代わるものであるとされている。すなわち、CAM Pおよびその誘導体が、虚血一再潅流障害などの急性期の虚血性疾患そのものに有効とい う報告はない。そして、本発明に用いられる多くの化合物は、特開昭60-239496 号、特開平3-83995号などに記載の公知の化合物であり、そのうちの幾つかは、強 心作用を有すること(特開昭63-208525号参照)が知られているが、急性期の虚 血疾患に対する効果を有することは知られていない。また、臓器保存剤については、N⁸ 、2'-O-ジブチリル c AMPや8-プロモ c AMPがその成分の一つとして有用であ るとの報告 (Circulation, 88巻, Part 2, 291頁, 1993年参照)があるが、後述する本発明に用いられる化合物がそのような効果を有することは知られ ていない。

[0005]

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、虚血一再潅流障害により生ずる急性期の疾患、例えば虚血性脳疾患、虚血性心 疾患、臓器移植障害などの予防、治療剤、および肺、肝臓、腎臓、心臓などの臓器移植の ために摘出された臓器を保存するのに有効な臓器保存剤を提供することを目的としてなさ れたものである。

[0006]

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、前記課題を達成するために鋭意研究を進めた結果、特定のCAMP誘導体 が急性期の虚血性疾患の予防、治療剤として、また臓器保護剤として有効であることを見 出し、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、下記の一般式

[0007]

[代2]

[0008]

(式中のR,は、水素原子、炭素数1ないし6のアルキル基、アルキル基の炭素数が1な いし3であるアラルキル基、又はフルフリル基を、R。は、水素原子、炭素数が1ないし 6のアルキル基、またはアルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基を、R3は 10

20

30

、水素原子、炭素数 1 ないし 6 のアルキル基、又はアルキル基の炭素数が 1 ないしは 3 であるアラルキル基を、R₄は、水素原子、アミノ基、低級アルキルアミノ基、低級アルキルチオ基、又はハロゲン原子を意味し、R₁、R₂、R₃が共に水素原子のとき、R₄がハロゲン原子となることはなく、また R₁、R₂、R₃、R₄が共に同時に水素原子となることはない。また、X は、水素原子、アルカリ金属、アンモニア、アミン類を意味する)

で表されるアデノシン-3',5'-環状リン酸誘導体の少なくとも一種を有効成分として含有することを特徴とする、虚血性疾患予防、治療剤であり、また、前記のアデノシン-3',5'-環状リン酸誘導体の少なくとも一種を有効成分として含有することを特徴とする、臓器保存剤である。

以下、本発明について詳細に説明する。

[0009]

【発明の実施の形態】

本発明の虚血性疾患予防、治療剤および臓器保存剤に用いられる化合物は、前記一般式で表させる c AMP誘導体であって、式中の R_1 は、水素原子、炭素数 1 ないし 6 のアルキル基、アルキル基の炭素数が 1 ないし 3 であるアラルキル基、又はフルフリル基を示す。 R_1 において、炭素数 1 ないし 6 のアルキル基としては直鎖状または分岐鎖状のアルキル基であり、例えばメチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、イソプチル基、ベンチル基、インペンチル基、ヘキシル基が挙げられ、炭素数が 6 を超えるときは、本発明の目的を十分に達成することができない(後述の R_2 、 R_3 におけるアルキル基も同様)。 また、アルキル基の炭素数が 1 ないし 3 であるアラルキル基としては、例えばベンジル基、メチルベンジル基、ハイドロキシベンジル基、アミノベンジル基、クロロベンジル基、プロモベンジル基、フルオロベンジル基、フェネチル基、フェニルプロピル基などが挙げられる。アルキル基の炭素数が 3 を超えるときは、本発明の目的を十分に達成することができない(後述の R_2 、 R_3 においても同様)。

[0010]

また、前記一般式中の R_2 は、水素原子、炭素数 1 ないし 6 のアルキル基、またはアルキル基の炭素数が 1 ないし 3 であるアラルキル基を示す。そして、 R_2 における炭素数 1 ないし 6 のアルキル基としては、例えば前記した R_1 と同様のアルキル基が挙げられ、またアルキル基の炭素数が 1 ないし 3 であるアラルキル基としては、例えば前記した R_1 と同様のアラルキル基が挙げられる。

[0011]

また、前記一般式中の R_3 は、水素原子、炭素数 1 ないし 6 のアルキル基、又はアルキル基の炭素数が 1 ないしは 3 であるアラルキル基を示し、炭素数 1 ないし 6 のアルキル基としては、具体的には前記した R_1 、 R_2 と同様のアルキル基が、また、アルキル基の炭素数が 1 ないし 3 であるアラルキル基としては、前記した R_1 、 R_2 と同様のアラルキル基が挙げられる。

[0012]

また、前記一般式中の R_* は、水素原子、アミノ基、低級アルキルアミノ基、低級アルキルチオ基、アラルキルチオ基、又はハロゲン原子を示す。アルキル基が低級アルキル基である前記のアルキルアミノ基としては、例えばメチルアミノ基、ジメチルアミノ基、エチルアミノ基、ジエチルアミノ基、プロピルアミノ基、ジプロピルアミノ基、ブチルアミノ基、ブチルアミノ基、ジブチルアミノ基などが挙げられる。また、低級アルキルチオ基としては、例えばメチルチオ基、エチルチオ基、プロビルチオ基、ブチルチオ基などが、またアラルキルチオ基としては、ベンジルチオ基、ハイドロキシベンジルチオ基などが挙げられる。そして、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 が共に同時に水素原子となることはない。

[0013]

また、一般式中のXは、水素原子、又はナトリウム、カリウムなどのアルカリ金属、アンモニア、又はトリエチルアミンなどのアミン類を示す。

10

20

30

40

[0014]

10

20

40

50

次いで、本発明に用いられる好適なCAMP誘導体の具体例を挙げる。

先ず、一般式中において R_1 が、炭素数 1 ないし6 のアルキル基、アルキル基の炭素数が 1 ないし3 であるアラルキル基、又はフルフリル基であり、 R_2 、 R_3 、 R_4 が共に水素原子である C A M P 誘導体としては、例えば N^6 - エチル C A M P 、 N^6 - プロピル C A M P 、 N^6 - プロピル C A M P 、 N^6 - ペンチル C A M P 、 N^6 - ペンチル C A M P 、 N^6 - ペンジル C A M P 、 N^6 - ペンジル C A M P 、 N^6 - フルフリル C A M P 、 N^6 - フェネチル C A M P 、 N^6 - フェネチル C A M P などの N^6 - アルキル C A M P が挙げられる。

[0015]

また、一般式中において、 R_1 、 R_2 が、共に炭素数 1 ないし6のアルキル基、又はアルキル基の炭素数が 1 ないし 3 であるアラルキル基であり、 R_3 、 R_4 が共に水素原子である c A M P 誘導体としては、例えば N 6 、 N 6 ージメチル c A M P 、 N 6 、 N 6 ージエチル c A M P 、 N 6 、 N 6 ージプロビル c A M P 、 N 6 、 N 6 ージプレ c A M P 、 N 6 、 N 6 ージペンチル c A M P 、 N 6 、 N 6 ージヘキシル c A M P 、 N 6 、 N 6 ージクロロベンジル c A M P 、 N 6 、 N 6 ーバイドロキシベンジル c A M P 、 N 6 、 N 6 ージフェネチル c A M P 、 N 6 、 N 6 ージフェニルブロビル c A M P などの N 6 、 N 6 ージアルキル c A M P が挙げられる。

[0016]

また、一般式中において、 R_1 、 R_2 、 R_3 が同一で、同時に炭素数 1 ないし 6 のアルキル基、又はアルキル基の炭素数が 1 ないし 3 であるアラルキル基であり、 R_4 が水素原子である c A M P 誘導体としては、例えば N^6 、 N^6 、 $2^{'}$ - O - トリプロピル c A M P 、 N^6 , N^6 , $2^{'}$ - O - トリプロピル c A M P 、 N^6 , N^6 , $2^{'}$ - O - トリペンチル c A M P 、 N^6 , N^6 , $2^{'}$ - O - トリペンチル c A M P 、 N^6 , N^6 , $2^{'}$ - O - トリベンジル c A M P 、 N^6 , N^6 , $2^{'}$ - O - トリベンジル c A M P 、 N^6 , N^6 , $2^{'}$ - O - トリフェネチル c A M P 、 N^6 , N^6 , $2^{'}$ - O - トリアルキル c A M P が挙げられる。

[0017]

また、一般式中において、 R_1 、 R_3 が同一で、炭素数 1 ないし 6 のアルキル基であり、 R_2 、 R_4 が共に水素原子である c A M P 誘導体としては、例えば N^6 、 2^* - O - ジメチル c A M P、 N^6 、 2^* - O - ジブチル c A M P、 N^6 、 2^* - O - ジブチル c A M P、 N^6 、 2^* - O - ジブチル c A M P、 N^6 、 2^* - O - ジベンチル c A M P、 N^6 、 2^* - O - ジベナル c A M P が挙げられる。

[0018]

また、一般式中において、 R_1 、 R_2 、 R_3 が、共に水素原子であり、 R_4 がアミノ基又は低級アルキルアミノ基である C A M P 誘導体としては、例えば8 - アミノ C A M P 、8 - メチルアミノ C A M P 、8 - ジメチルアミノ C A M P 、8 - ジブロビルアミノ C A M P 、8 - ジブロビルアミノ C A M P 、8 - ジプロビルアミノ C A M P 、8 - ジプロビルアミノ C A M P などの8 - アミノ C A M P 又は8 - アルキルアミノ C A M P が挙げられる。

[0019]

また、一般式中において、 R_1 が、炭素数 1 ないし 6 のアルキル基又はベンジル基であり、 R_2 、 R_3 が共に水素原子であり、 R_4 が低級アルキルアミノ基、低級アルキルチオ基、アラルキルチオ基、又はハロゲン原子である c AMP誘導体としては、例えば N^6 ープチルー8ーペンジルチオ c AMP、 N^6 ーペンチルー8ープロモ c AMP、 N^6 ープロビルー8ーベンジルチオ c AMP、 N^6 ーヘキシルー8ークロロ c AMP、 N^6 ープチルー8ーエチルチオ c AMP、 N^6 ーエチルー8ープロピルアミノ c AMPなどの N^6 ーアルキルー8ー 歴換 c AMPが挙げられる。

[0020]

前記したこれらcAMP誘導体は、虚血性浮腫に対して強い抑制作用を有するので、虚血

による疾患(虚血性脳疾患、虚血性心疾患、虚血一再潅流障害、臓器移植時の障害)の予防、治療剤として、あるいは臓器移植の際の虚血状態にある臓器の保存剤としても有効に用いられる。

[0021]

本発明に用いられる c A M P 誘導体(以下、本 c A M P 誘導体ということがある)の 1 種又は 2 種以上を含有させて脳梗塞、脳浮腫、心筋梗塞、不整脈、狭心症などの虚血性疾患予防、治療剤として投与する場合、内服薬あるいは往射薬として用いるのが好ましい。内服薬として用いる場合は、錠剤、散剤、顆粒剤、カブセル剤、シロップ剤などとして、経口投与してもよいし、また直腸投与のために座剤の形でも投与できる。経口投与の場合は、本 c A M P 誘導体に、薬理学的に許容される添加物、すなわち賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、保存剤などを加えることが出来る。また非経口投与の場合には、例えば注射剤の形で使用され、注射剤としては無菌の水性または非水性の溶液剤、懸濁剤、乳酸剤などが含まれる。更に、必要に応じて防腐剤、乳化剤、分散剤、安定化剤、溶解補助剤等を添加しても良い。またこれを通常の無菌化処理した後、凍結乾燥などにより個体組成物として、使用直前に滅菌液体を加えて使用することもできる。

本発明の虚血性疾患予防、治療剤を投与する場合は、症状の程度、年齢、体重により異なるが、経口投与の場合、一般に成人一日当たり本 c A M P 誘導体を 0.01~400 m g / k g、好ましくは 0.5~100 m g / k gを1~数回に分けて、また非経口投与の場合には 0.00~100 m g / k g、好ましくは 0.01~50 m g / k gを1~数回に分けて投与するのが好ましい。

[0022]

また、本 c A M P 誘導体の 1 種または 2 種以上を有効成分として含有させて臓器移植時の臓器保存剤として使用する場合は、これを液体に溶解するか、又はその凍結乾燥などにより個体組成物とし、使用直前に滅菌液体を加えて使用する。この保存剤を保存液の形態で用いる場合には、例えば生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水、クエン酸緩衝など生理的に許容される緩衝液や等張化液などに、本 c A M P 誘導体を溶解して調製することが出来る

また好ましくは、従来より移植用臓器の保存液として用いられているユーロコリンズ(Euro-collins)液やユニバーシティ オブ ウイスコンシン(UW)液などに、本cAMP誘導体の必要量を添加して調製することが出来る。

臓器保存剤として使用する場合は、本c A M P 誘導体を0. $0.1 \sim 1.00$ m M 好ましくは0. $1 \sim 3.0$ m M とするのがよい。

[0.023]

これら c A M P 誘導体を得るには、その製造方法は特に限定されず、どの様な方法でもよく、例えば N^6 — アルキル c A M P 影響体は、特開昭 6 O — 2 3 9 4 9 6 号に記載の方法に従い、c A M P と対応するアルデヒドと選元剤を用いる選元アルキル化反応により、また、 N^6 , N^6 — ジアルキル c A M P 誘導体は、特開平 3 — 8 3 9 9 5 号に記載の方法に従い、2 " — O — 1 トシル 1 C A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 A M P を 1 B M P を 1 A M P を 1 B M P を 1 B M P を 1 B M P を 1 B M P E 1 B M P E 1 B M P E 1 B M P E 1 B M P E 1 B M P E 1 B M P E 1 B M P E 1 B M P E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E 1 B M E

[0024]

【実施例】

10

20

30

4()

以下に、参考例、実験例、実施例を挙げてさらに詳細に説明するが、本発明は、これらの 例によって限定されるものではない。

参考例1 (N⁶ープロピル c A M P の製造)

UV: $\lambda max = 0.1N \text{ NaOH } (\epsilon) \text{ nm}: 267 (17600)$

元素分析値: C₁₃H₁₈N₅O₆P・3/4H₂Oとして

C H N

実測値(%) 40.64 5.00 18.09

計算値 (%) 40.58 5.11 18.20

20

30

40

10

[0025]

参考例2 (N⁶-ブチルcAMPの製造)

c A M P のトリプチルアミン塩 5. 0 g を酢酸 1 0 0 m 1 に溶解し、ブチルアルデヒド 8. 7 m 1 を添加し、5 0 % に加熱下、撹拌した。次いでシアノ水素化ほう素ナトリウム 2. 5 g を含んだジメチルホルムアミド 6 m 1 を加え、6 時間撹拌した。次いで、参考例 1 に示したと間様の後処理をして、無色粉状の目的の化合物 % ープチル % A M P 2. 8 g を得た。

UV: λmax 0. 1N NaOH (ε) nm: 267 (17100)

元素分析値: C₁₄H₂₀N₅O₆P・2/3H₂Oとして

C H N

実測値 (%) 42.26 5.22 17.61

計算値 (%) 42.32 5.41 17.63

[0026]

参考例3 (N⁶ーイソプチル c A M P の製造)

c A M P の トリブチルアミン塩 5.0 g を酢酸 1 O 0 m 1 に溶解し、イソブチルアルデヒド 7.1 m 1 を添加し、50 ∞ に加熱下で撹拌した。次いでシアノ水素化ほう素ナトリウム 2.5 g を含んだジメチルホルムアミド 6 m 1 を加え、5 時間撹拌した。参考例 1 に示したと同様の後処理をして、目的の化合物 N^s ーイソブチル C A M P 1 .6 g を得た。

UV: λmax 0. 1N NaOH (ε) nm: 267 (17600)

元素分析値: C₁₄H₂₀N₅O₆P・2/3H₂Oとして

C H N

実測値 (%) 42.15 5.20 17.50

計算値 (%) 42.32 5.41 17.63

[0027]

参考例 4 (N⁶ーペンチル c AMPの製造)

UV: λmax 0. 1N NaOH (ε) nm: 267 (16700)

元素分析値: C₁₅H₂₂N₅O₆P・3/2H₂Oとして

C H N

実測値(%) 42.01 5.66 16.23

計算値 (%) 42.26 5.91 16.43

[0028]

参考例5 (N⁶ーペキシル c A M P の製造)

UV: λmax 0. 1N NaOH (ε) nm: 267 (17700)

元素分析値: C₁₆H₂₄N₅O₆P・2/3H₂Oとして

C H N

実測値(%) 45.08 5.84 16.31

計算値(%) 45.18 6.00 16.46

[0029]

参考例 6 (N ⁶ ーベンジル c A M P の製造)

UV: λmax 0. 1N NaOH (ε) nm: 268 (18600)

元素分析値: C₁₇H₂₈N₅O₆P・H₂Oとして

C H N

実測値 (%) 46.50 4.66 15.84

計算値(%) 46.72 4.58 16.03

[0030]

参考例 7 (N ⁶ - フルフリル c A M P の製造)

c A M P のトリプチルアミン塩 5.0 g を酢酸 $100 \, \mathrm{m}$ 」に溶解し、フルフラール $8.4 \, \mathrm{m}$ 」を添加し、 $50 \, \mathrm{C}$ に加熱下で撹拌した。次いでシアノ水素化ほう素ナトリウム $2.5 \, \mathrm{g}$ を含んだジメチルホルムアミド $6 \, \mathrm{m}$ 」を加え、 $8 \, \mathrm{b}$ 間撹拌した。次いで参考例 $1 \, \mathrm{cm}$ し

30

10

20

たと同様の後処理をして、無色粉状の目的の化台物 N^6 ーフルフリル C A M P 2 . 3 g を 得た。なお、元素分析には、 N a 塩を調製し、測定した。

UV: λmax 0. 1N NaOH (ε) nm: 266 (16500)

元素分析値: C₁₅H₁₆N₅O₇PNa・3/2H₂Oとして

C H

実測値(%) 39.27 3.67 14.96

計算値(%) 39,31 3,95 15.28

10

[0031]

参考例8 (N[®], N[®]ージブチルcAMPの製造)

(1) 2'-0-トシル c A M P の合成

c AMP (32、9g) の水酸化ナトリウム (11g) 水溶液 (200ml) にトシルクロライド (86g) のジオキサン (600ml) 溶液を加え、室温下で一晩撹拌した。生成した沈殿をろ取し、ジオキサン洗浄し、乾燥して2' -0-トシル c AMP 3 9 g を得た。

N

UV: λmax EtOH (ε) nm: 258 (14400)

元素分析値: C₁₇H₁₈N₅O₆P・2/3H₂Oとして

20

C H

実測値(%) 41.03 3.85 14.16

計算値(%) 41.23 3.90 14.14

(2) N⁶、N⁶-ジプチル c A M P の製造

前記のごとくして得た 2'-O-トシル c AMP (2. O g) のジメチルスルホキサイド (20 m 1) 溶液に、水素化ナトリウム (6 6 0 m g)、プチルプロマイド (1. 8 m 1) を添加し、室温下、2日間撹拌した。反応液にメタノール/水 (6 0 m 1: 6 0 m 1)、2 N 水酸化ナトリウム (1 4 m 1) を加え、室温下で一日撹拌した。その後、濃塩酸で中和、溶媒留去後、残査を水に溶解し、2 N 塩酸で p H 2 に調整し、活性炭カラムに吸着させ、水で洗浄し、エタノール/水/2 8 % 水酸化アンモニウム (容量比 10:10:1) で溶出する区分を滅圧乾固した。残査を少量のメタノールに溶解し、2 N 塩酸で p H 2 に調整し、p r e p T L C (メタノール/クロロホルム;容量比 3:7) で精製し、目的とする N^6 , N^6 - ジブチル c AMP 1 . 26 g を得た。

UV: λmax 0. 1N NaOH (ε) nm: 278 (19300)

元素分析値: C18H28N5O6P・4/3H2Oとして

C H N

実測値(%) 47.59 6.40 15.29

計算値(%) 47.52 6.53 15.39

40

[0032]

参考例 9 (N⁶、N⁶-ジベンチル c AMPの製造)

, N⁶ージペンチル c A M P を 0、 9 3 4 g 得た。

UV: λmax 0. 1N NaOH (ε) nm: 279 (19800)

元素分析値: C₂₀H₃₂N₅O₆P・H₂Oとして

C H N

実測値(%) 49.63 6.82 14.35

計算値(%) 49.73 7.05 14.50

[0033]

10

参考例10 (N⁶、N⁶ージベンジル c A M P の製造)

参考例 8 に示したと同様の方法でおこなった。すなわち、 2 ' - O - トシル c A M P (2 , O g) のジメチルスルホキサイド (2 O m 1) 溶液に水素化ナトリウム (7 3 O m g)、ベンジルプロマイド (2 , 6 m 1) を添加し、室温下で 7 時間反応させた。この反応液にメタノール/水 (3 O m 1 : 7 O m 1) 、 2 N 水酸化ナトリウム (1 3 m 1) を加え、 室温下で 2 日撹拌した。次いで参考例 8 - (2) と同様の後処理をして目的化合物の N^6 、 N^6 - ジベンジル c A M P を 0 、 7 7 3 g 得た。

UV: $\lambda max = 0.1N NaOH(\epsilon) nm: 277 (22100)$

元素分析値: C₂₄H₂₄N₅O₆P・3/2H₂Oとして

20

30

C H N

実測値(%) 53.53 4.82 12.71

計算値(%) 53.73 5.07 13.05

[0034]

参考例11 (N⁶, N⁶, 2'-O-トリエチル c A M P の製造)

c AMPトリプチルアミン塩(2.1g)のジメチルスルホキサイド(20 m 1)溶液に水素化ナトリウム(800 m g)、エチルプロマイド(2.1 m 1)を添加し、室温下で8時間撹拌した。反応液を2 N 塩酸で p H 2 に調整した後、溶媒を減圧留去した。残留する油状物質にベンゼン(50 m 1)を加えて溶解し、水 1 50 m 1 / 阿で4回洗浄した。ベンゼン層を分取し、無水硫酸ナトリウム乾燥後、減圧乾固した。得られた残壺を少量のメタノールに溶解し、p r e p . T L C (メタノール/クロロホルム:容量比1:4)にて精製し、目的化合物のN°、N°、2′ ー〇ートリエチル c AMPを0.96 g 得た。

UV: λmax 0. 1N NaOH (ε) nm: 277 (18700)

元素分析値: C₁₆H₂₄N₅O₆P・1/2H₂Oとして

C H N

実測値(%) 45.48 5.86 16.51

計算値(%) 45.50 5.96 16.58

なお、動物試験にはこの化合物をO、2N NaOHで中和してNa塩としたものを使用した。

[0035]

参考例 1 2 (N ⁶, N ⁶, 2 ' ー O ー トリプチル c A M P の製造)

50

なお、動物試験にはこの化合物を0.2N NaOHで中和してNa塩としたもの使用した。

UV: λmax 0. 1N NaOH (ε) nm: 277 (18400)

元素分析値: C₂₂H₃₆N₅O₆P + 2/3H₂Oとして

C H N

実測値(%) 52.21 7.19 13.42

計算値(%) 51,86 7.38 13.74

[0036]

参考例 1 3 (N⁶, 2' - O - ジプチル c A M P の製造)

c AMPトリブチルアミン塩(3、1g)のジメチルスルホキサイド(50 m l)溶液に、28%ナトリウムメトキサイド(25、6 m l)、ブチルプロマイド(10、3 m l)を添加し、室温下で1日間撹拌した。この反応液を2N塩酸で中和した後、溶媒を減圧留去した。残査を少量の水に溶解し、2N塩酸でpH2に調整した後、活性炭カラムに吸着させ、水で洗浄後、エタノール/水/28%水酸化アンモニウム(容量比10:10:1)で溶出する区分を減圧乾固した。得られた残査を少量のメタノールに溶解し、2N塩酸でpH2に調整、prep.TLC(メタノール/クロロホルム;容量比3:7)にて精製し、目的化合物であるN⁶、2^{*} - O - ジブチル c AMPを0.54 g得た。

UV: $\lambda max = 0.1N \quad NaOH (\epsilon) \quad nm: 267 (16400)$

元素分析値: C₁₈H₂₈N₅O₆P・H₂Oとして

C H N

実測値 (%) 46.85 6.24 14.94

計算値(%) 47.06 6.58 15.24

[0037]

参考側14 (8-ジメチルアミノ c A M P の製造)

Muneyamaらの方法(バイオケミストリー、10巻、2390頁、1971年参照)で合成した。すなわち、8ープロモ c AMP3 g のメタノール(20 m 1)溶液に、ジメチルアミン(18 m 1)を添加し、一晩加熱環流した。溶媒を留去した後、残査をシリカゲルカラム(30 g)に添付し、クロロホルムーメタノール(容量比3:1)で洗浄後、メタノールで溶出し、目的化合物を含む区分を減圧乾竭した。得られた残査を水より再結晶して目的の化合物8ージメチルアミノ c AMP2、1 g を得た。

UV: Amax 0. 1N NaOH nm: 273

λmax 0. 1N HCl nm: 278

[0038]

参考例 1 5 (N⁶-プチル-8-ベンジルチオ ε A M P の製造)

前記したMuneyama5の方法で合成した8-ベンジルチオ c AMPのトリプチルアミン塩 3 、2 g を酢酸 1 O 0 m 1 に溶解し、ブチルアルデヒド 3 、4 m 1 を添加し、室温下で撹拌した。次いでシアノ水素化ほう素ナトリウム 1 、4 g を含んだジメチルホルムアミド 6 m 1 を加え、4 時間撹拌した。次いで参考例 1 と同様の後処理をして無色粉状の目的化合物の N^6 -ブチル-8-ベンジルチオ c AMP 2 、1 g を得た。

10

20

30

UV: $\lambda max = 0.1N \text{ NaOH}(\epsilon) \text{ nm}: 292 (16300)$

元素分析値: C₂₁H₂₆N₅O₆P・H₂Oとして

C H N

実測値(%) 48.02 5.43 13.25

計算値(%) 48.00 5.37 13.33

[0039]

参考例16 (N⁶ーペンチルー8ープロモcAMPの製造)

8 ー プロモ c A M P のトリプチルアミン塩 2 、 7 g を酢酸 1 O 0 m 1 に溶解し、バレルアルデヒド 8 、 5 m 1 を添加し、室温下で撹拌した。次いでシアノ水素化ほう素ナトリウム 1 、 8 g を含んだジメチルホルムアミド 6 m 1 を加え、6 時間撹拌した。参考例 1 と同様の後処理をして無色粉状の目的とする化合物の N^6 ーペンチルー 8 ープロモ c A M P 1 、 8 g を得た。

UV: $\lambda max = 0.1N \text{ NaOH}(\epsilon) \text{ nm}: 269 (17100)$

元素分析値: C₁₅H₂₁N₅O₆PBr・1/2H₂Oとして

C H N

実測値(%) 48.02 5.43 13.25

計算値(%) 48.00 5.37 13.33

[0040]

実験例1 (急性毒性試験)

表1に示す各cAMP誘導体を生理食塩水に溶解し、5週齢のICR系マウス(雌5匹/群)に腹腔内投与してLDseを求めた。その結果を表1に示す。

[0041]

【表1】

裘 1

| 化合物名 | LD 50 (mg/kg) |
|-----------------------|---------------|
| N 6ープロピル o AMP | 400 |
| N 6 ープチル c AMP | 350 |
| N 6 ーベンジ)レc AMP | 380 |
| N 6 ーフルフリル c AMP | 480 |
| N 6, N 6 ジプチル c AMP | 400 |
| N 6 ープチルー8ーベンジルチオcAMP | 350 |

なお、表1に示した各c AMP誘導体は、参考例1、2、6、7、8及び15に記載したと同様にして得たものである。

[0042]

実施例1 (虚血性浮腫に対する抑制試験)

7~8週齢のddy雄性マウスを用い、表2に示す各被検物質を虚血する30分前に投与した。なお、対照には生理食塩水を投与した。

浮腫抑制試験は、マウス右後足に輪ゴム(直径 4 2 mm) で縛り、虚血状態とした。20 分後に輪ゴムを取り除き血流を再開させたときの浮腫の程度を調べることによって行なっ 10.

20

30

50

た。浮腫の程度は、再潅流20分後に、OZAKI MFG.CO., LTD社製の「dial thickness gage G MICRO G-1M」を用いて、右足の厚さ (mm) を測定することで数値化した。

被検物質は、生理食塩水に溶解し、これを10mg/kg投与量で静脈内投与した。なお、生理食塩水に溶解しにくい化合物については腹腔内投与した。浮雕抑制率(%)は、A:被検物質投与における虚血前の足の厚さ(mm)、B:被検物質投与における再灌流後20分の足の厚さ(mm)、C:対照の虚血前の足の厚さ(mm)、D;対照の再灌流後20分の足の厚さ(mm)を測定し、測定したA、B、C、Dから、{1-(B-A)÷(D-C)}×100の計算によって求めた。

このようにして求めた各被検物質の浮腫抑制率(%)を表2に示す。

[0043]

表 2

| 被檢物質名 | | 經濟香·斯勒 18670/ \ | |
|-------|------------------------------------------|-----------------|-----|
| | 恢使40.风行 | 浮腫抑制率(%) | |
| | | | |
| 1 | N ⁶ ープロピル c AMP | 4.0 | |
| 2 | N 6ープチル c AMP | 3 5 | |
| 3 | N 6ーインプチル c AMP | .5 0 | 20 |
| .4 | N®ーペンチルc AMP | 53 | 20 |
| 5 | N ⁶ ーヘキシル c AMPN a | 4.6 | |
| 6 | N 6 ーベンジル c AMP | 5.8 | |
| 7: | N®ーフルフリル c AMP | 2 5 | |
| 8 | N®、N®ージプチルcAMP | 2 5 | |
| 9 | N 6, N 6 - ジペンチル c AMP | 30 | |
| 10 | N 6 , N 6 ージベンジルc AMP | 20 | |
| 11 | N6, N6, 2'-0-19= ## AMPNa | 2 5 | 00 |
| 12 | N6, N6, 2'-0-1977/c AMPNa | 30 | .30 |
| 13 | N 6, 2'-O-ジプチル c AMP | 3 6 | |
| 14 | 8ージメチルアミノ c AMP | 30 | |
| 15 | N ⁶ ープチルー 8 ーベンジルテオ c AMP N a | 3.8 | |
| 16 | N 6 ーペンチルー8ープロモcAMP | 2 7 | |
| 比較 | 例1;cAMPNa | | |
| 比較 | 例2;N6,2°-O-ジブチリルcAMPNa | 5 | |
| 比較 | 例3;8-プロモcAMP | 5 | in |
| 比較 | 例4;アデノシン | | 40 |

表中の一は、活性なしを表す。

なお、表 2中のNo、1~16に示す各 c AMP誘導体は、それぞれ前記参考例 1~16に記載したと同様の方法で得たものである。

[0044]

表 2 に示したように、本発明に用いられる c AMP誘導体は、いずれも虚血性浮腫に対して強い抑制作用を有することが確認された。一方 c AMP、8 ープロモ c AMP、アシル誘導体である N^6 、 $2^{\prime\prime}$ ー〇ージブチリル c AMP、さらには c AMP類似化合物である

アデノシンなどには殆ど活性がないか、あっても非常に弱いものであり、本発明に用いられる c A M P 誘導体が、虚血性浮腫に対し優れた抑制作用を有することがわかる。

[0045]

実施例2 (アンプル型の虚血性疾患予防、治療剤)

 N^6 ープチル C A M P 9 g を注射用蒸留水 3 O 0 m 1 に溶解し、無菌 S 温 した後、アンプルに 3 m 1 づつ充填し、アンプル型の非経口投与用の虚血性疾患予防、治療剤を調製した。なお、使用した N^6 ープチル C A M P は、参考例 2 に記載したと同様の方法で得たものである。

[0046]

実施例3 (アンブル型の虚血性疾患予防、治療剤)

 N^6 ーベンジル c A M P 3 g を、注射用蒸留水 3 O 0 m 1 に溶解し、無菌 5 過した後、アンプルに 2 m 1 づつ 充填し、アンプル型の非経口投与用の虚血性疾患予防、治療剤を調製した。なお、使用した N^6 ーベンジル c A M P は、参考例 6 に記載したと同様の方法で得たものである。

[0047]

実施例4(カプセルタイプの虚血性疾患予防、治療剤)

組成成分:

N°-ペンチル c A M P250 gバレイショ澱粉150 g軽質無水ケイ酸50 gステアリン酸マグネシウム10 g乳糖540 g

上記組成成分を均一に混合し、硬質カプセルに500mgづつ充填して経口投与用のカプセルタイプの虚血性疾患予防、治療剤を調製した。

なお、使用した N^8 ーペンチル c A M P は、参考例 4 に記載したと同様の方法で得たものである。

[0048]

実施例5 (錠剤型の虚血性疾患予防、治療剤)

組成成分:

N°-ブチルー8ーベンジルチオ c AMPN a400 gパレイショ澱粉150 g結晶セルロース60 g軽質無水ケイ酸50 gヒドロキシプロピルセルロース30 gステアリン酸マグネシウム15 g乳糖295 g

40

10

20

30

上記のN⁶-ブチル-8-ベンジルチオ c AMPN a、乳糖、バレイショ澱粉、結晶セルロースおよび軽質無水ケイ酸を混合し、ヒドロキシプロピルセルロースの10%エタノール溶液を加えて練合、造粒して径0.8mmのスクリーンで押し出して類粒を調製し、乾燥した後にステアリン酸マグネシウムを加えて圧縮成形し、500mgの錠剤型の虚血性疾患予防、治療剤を調製した。

なお、使用した N 6 ーブチルー 8 ーベンジルチオ c AMPN a は、参考例 1 5 に記載した と同様の方法で得たものである。

[0049]

実施例6(臓器保存剤)

10

20

30

組成成分:

デキストラン 5.0 g / リットル

グルコン酸カリウム 95mmol/リットル

KH₂PO₄ 25mmol/リットル

MgSO₃ 5mmol/リットル

グルコース 6.5 m m o 1 / リットル アデノシン 5 m m o 1 / リットル

N-アセチルシステイン 0.5mmol/リットル

N°ーベンジルcAMP 1 mmol/リットル

上記の成分を混合してpH7~8に調製し、臓器保存用液を調製した。

なお、使用した N 6 - ベンジル c A M P は、参考例 6 に記載したと同様の方法で得たものである。

[0050]

実施例7 (臟器保存剤)

組成成分:

ヒドロキシエチル澱粉 60g/リットル

KH₂PO₄ 6.5 mm o 1 / U y F / L

K₂H PO₄ 18 m m o 1 / リットル

グルコン酸カリウム 86mmo1/リットル

グルコン酸ナトリウム 10mmo1/リットル

マンニトール 90mmo1/リットル

NaHCO3 10mmol/Vyh

N⁶ーペンチル c A M P 2 m m o 1 / リットル

上記の成分を混合してpH7~8に調製し、臓器保存用液を調製した。

なお、使用した N^6 ーペンチル c A M P t t 、参考例 a t t 記載したと同様の方法で得たものである。

[0051]

【発明の効果】

本 c A M P 誘導体は、虚血一再潅流障害による浮腫を強く抑制する作用を有するので、これを有効成分として含有させた本発明の虚血性疾患予防、治療剤は、急性期の虚血性脳疾患、虚血性心疾患、臓器移植障害などの予防、治療剤として有効に用いられる。また、本発明の臓器保存剤は、虚血状態にある肺、肝臓、腎臓、心臓などの移植用摘出臓器を保存する際の臓器保存剤として有効に用いることができる。

フロントページの続き

審查官 渕野 留香

(56)参考文献 国際公開第90/011080 (WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 31/7076

A61P 9/00

AG1P 43/00

C07H 19/167

CA(STN)

REGISTRY(STN)